ÜBER DIE EINWIRKUNG VON QUECKSILBERSALZEN UND SPEZIELL VON MILLONSCHEM REAGENS AUF GELATINE UND HÜHNEREIWEISS.

ACAD.
LUGD. BAT.
BIBL.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

EINER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

DER

GEORG-AUGUST-UNIVERSITÄT ZU GÖTTINGEN

VORGELEGT

VON

PAUL STERNBERG
AUS MAINZ.

MIT EINER TAFEL.

GÖTTINGEN 1913
DRUCK DER DIETERICH'SCHEN UNIV.-BUCHDRUCKEREI
W. FR. KAESTNER.

Angenommen von der
mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung.

Tag der mündlichen Prüfung: 4. August 1913.

Referent: Herr Prof. Dr. Richard Zsigmondy.

MEINEN ELTERN.

Der erste Teil vorliegender Arbeit wurde im gärungschemischen Laboratorium der technischen Hochschule in München unter Anleitung des Herrn Prof. Dr. C. J. Lintner ausgeführt. Auch an dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Lintner für die mir gewährte Unterstützung und Anregung meinen besten Dank aussprechen.

Der zweite Teil wurde im Institut für anorganische Chemie in Göttingen angefertigt.

Einleitung.

Eine der am häufigsten angewandten ältesten Reaktionen auf Eiweiß ist bekanntlich die von Millon[1]) Er erhält sein Reagens durch Auflösen von metallischem Quecksilber in den gleichen Gewichtsteilen konzentrierter Salpetersäure.

Nickel[2]) stellt die gleiche Lösung auf volumetrische Weise her, indem er auf 1 ccm Quecksilber 9 ccm konzentrierte Salpetersäure (spez. Gew. 1,52) nimmt und dann mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt.

Beide Lösungen besitzen den Nachteil, daß sie bei längerem Stehen ihre Wirksamkeit verlieren.

Deshalb gibt Lintner[3]) drei Lösungen an, aus denen man sich unmittelbar vor Gebrauch das Reagens herstellt. Nach seinen Angaben gibt man im Reagensglase zu der zu untersuchenden Substanz 10 ccm einer Quecksilbernitratlösung, — dieselbe erhält man durch Auflösen von 10 gr käuflichem Quecksilbernitrat in 90 ccm Wasser, dem man zur völligen Lösung des ge-

1) Compt. rend. 28, S. 40.

2) Die Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen, Kap. I, S. 7.

3) Zeitschr. f. angewandte Chemie, 1900, Bd. 29, S. 707.

bildeten Quecksilberoxyds in der Hitze etwas konzentrierte Salpetersäure hinzufügt —, 1 ccm einer 1 % igen Natriumnitritlösung und 1 ccm Salpetersäure 1 : 10. Durch Erwärmen kann man die Reaktion beschleunigen.

Statt Nitrat und Salpetersäure benützt O. Nasse[1]) Quecksilberacetat, Natriumnitrit und Essigsäure, doch ist hierbei längeres Stehen bis zur Vollendung der Reaktion nötig.

Schon Millon fand, daß seine Reaktion nicht nur bei Albumin direkt, sondern auch bei vielen anderen Eiweiß- und eiweißähnlichen Substanzen mit Erfolg angewandt werden kann. Er selbst gibt an, daß Gelatine ebenfalls die Reaktion gibt, ohne sich jedoch weiter mit dieser Erscheinung beschäftigt zu haben.

Nasse[2]) zieht aus seinen Untersuchungen den Schluß, daß die Rotfärbung beim Behandeln mit Millons Reagens allen den Stoffen eigen ist, die eine einzelne direkt an den Benzolkern gelagerte Hydroxylgruppe besitzen. Und in der Tat findet man, bei der Hydrolyse fast aller Eiweißverbindungen, die die Millon'sche Reaktion geben, einen Bestandteil, der die oben erwähnte Struktur hat, nämlich das Tyrosin.

Bei der Hydrolyse der Gelatine wurde nun aber meistens kein Tyrosin gefunden, oder die Angaben darüber lauten sehr unbestimmt.

So zersetzen z. B. Schützenberger und Bourgeois[3]) Gelatine mit Barytwasser und finden:

---

1) Pflügers Archiv, Bd. 83, S. 361.

2) Über die aromatische Gruppe im Eiweißmolekül, Berichte d. Naturf.-Ges. in Halle, 8. März 1897.

3) Compt. rend., Bd. 28, S. 263.

Glykokoll, 20—25%,
Alanin,
Amido-Buttersäure,
Spuren von Glutaminsäure,
Gesättigte Kohlenwasserstoffe ca. 50%

kein Leucin und kein Tyrosin.

E. Fischer und P. A. Levene und R. A. Anders [1]) hydrolysieren mit Salzsäure und trennen das Aminosäuregemisch durch Fraktionieren der Aethylester. Sie finden:

Glykokoll 16,5%,
Alanin 0,8%,
Pyrrolidin-Carbonsäure 5,2%,
Asparaginsäure 0,56%,
Glutaminsäure 0,88%,
Phenylalanin 0,4%,

aber ebenfalls kein Tyrosin.

P. A. Levene und W. A. Beatty [2]) hydrolysieren Gelatine mit Schwefelsäure, ohne jedoch Tyrosin zu finden.

Etard [3]) behauptet bei der Hydrolyse von entkalkten Ochsenknochen Tyrosin gefunden zu haben. Sein Versuch wurde folgendermaßen angestellt: Entkalkte Ochsenknochen lösen sich leicht, wenn sie 48 Stunden mit 20%iger Schwefelsäure gekocht werden. Das Hydrolysenprodukt gleicht einer konzentrierten Zuckerlösung. Die schwefelsaure Lösung muß mit Kreide und zuletzt mit Baryt versetzt werden, um die sehr konzentrierte Säure zu neutralisieren und zu entfernen. Die neutrale

1) Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 35, S. 70.
2) Ebenda, Bd. 49, S. 257.
3) Compt. rend., Bd. 132, S. 1184.

Flüssigkeit läßt, wenn sie konzentriert wird, ein wenig Tyrosin, viel Glykokoll und Leucin fallen.

Nähere Angaben über die Trennung und nähere Charakterisierung der von ihm gefundenen Aminosäuren gibt er jedoch nicht.

Die Meinungen der Forscher auf diesem Gebiete sind verschieden. So behaupten einige, gereinigte Gelatine gäbe die Millonsche Reaktion nicht, andere, wie z. B. van Name[1]) behauptet, die Millonsche Reaktion käme dem reinen Glutin zu. Nach Mörner[2]) gibt auch der reinste Leim eine schöne Millonsche Reaktion, wenn man nicht zuviel Reagens zusetzt, widrigenfalls erhält man keine oder eine sehr schwache Reaktion.

Der Absicht, etwas mehr Licht in das Verhalten der Gelatine gegenüber Quecksilbersalzlösungen und dem Millonschen Reagens zu bringen, sowie die Eigenschaften der durch die Einwirkung von Quecksilbersalzen und Natriumnitrit auf Eiweißkörper entstehenden Verbindungen zu studieren, entsprang diese Arbeit.

---

1) Journ. of Exper. med., Bd. 2, S. 117.
2) Hammersten, Lehrb. f. phys. Chem., 1907, S. 79.

Experimenteller Teil.

Verhalten der Gelatine gegen Quecksilbersalzlösungen.

Bemerkenswert ist, daß Gelatine in wäßriger Lösung ein anderes Verhalten gegen Quecksilbersalzlösungen zeigt, als wenn man diese Reagentien auf feste Gelatine einwirken läßt. Ferner reagiert Gelatine verschieden gegen Quecksilbernitratlösung und gegen Quecksilberacetatlösung, weshalb diese Vorgänge getrennt behandelt wurden. Ein Beweis für die Verschiedenartigkeit der Einwirkung waren die angestellten Quecksilberanalysen der Fällungsprodukte, die entstehen, wenn man Gelatine mit Quecksilbersalzlösung versetzt. Die Analysen wurden auf folgende Weise ausgeführt.

Circa 0,5 gr der Analysensubstanz wurden im Kjeldahlkolben mit 20 ccm konz. Schwefelsäure gekocht, bis die Lösung farblos war. Dann wurde stark mit Wasser verdünnt, das Quecksilber mit Schwefelwasserstoff ausgefällt, in einen Goochtiegel filtriert, bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und als Quecksilbersulfid gewogen. Von jeder Analysensubstanz wurden Trockensubstanzbestimmungen ausgeführt und auf diese alle gefundenen Werte umgerechnet.

Die zur Fällung benützten Quecksilberlösungen waren eine Quecksilbernitratlösung, die, wie bereits in der Einleitung angegeben war, nach Vorschrift von Lintner hergestellt wurde, sowie eine Quecksilberacetatlösung 1 : 25.

Verhalten von fester Gelatine gegen Quecksilbernitratlösung.

Gelatine wurde in Quecksilbernitratlösung gelegt, in der sie allmählich aufzuquellen beginnt. Nach drei- bis viertägigem Einwirken war sie trüb, aber vollständig weich. Die so behandelte Gelatine zeigte beim Waschen mit reinem Wasser ein anderes Verhalten als beim Waschen mit angesäuertem Wasser. Wäscht man dieselbe mit reinem Wasser, so erhält man eine rein weiße, lederartige, undurchsichtige Masse. Dieselbe wurde gewässert bis zum Verschwinden der Quecksilber- und Salpetersäurereaktion und an der Luft trocknen lassen. Nach dem Trocknen ist der Körper trüb, aber schwach durchsichtig. Bei der Analyse wurden folgende Zahlen erhalten:

Trockensubstanzbestimmung

angew. Subst.	1,7056 gr
Verlust b. Trocknen . . .	0,2929 gr
Wassergehalt	17,13 %.

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,9338 gr
Quecksilbersulfid	0,1781 gr
Quecksilber	0,1104 gr
	= 11,82 %

Quecksilber auf Trockensubstanz berechnet . . . . . 14,27 %.

Wäscht man jedoch den vorher erhaltenen Gelatinekörper statt mit reinem mit schwach angesäuertem Wasser so bleibt er weich und durchsichtig, wie auch der mit reinem Wasser gewaschene Körper mit verdünnter Säure seine frühere Beschaffenheit wieder erlangt.

Nach dem Trocknen an der Luft gab der mit angesäuertem Wasser gewaschene Gelatinekörper folgende Analysenzahlen:

Trockensubstanzbestimmung

angew. Subst.	0,6729 gr
Verlust beim Trocknen . .	0,1324 gr
Wassergehalt	20,1 %.

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,5405 gr
Quecksilbersulfid	0,0259 gr
Quecksilber	0,0223 gr
	= 4,12 %

auf Trockensubstanz berechnet 5,16 %.

Auffallend ist beim Vergleich der beiden Analysen der geringe Quecksilbergehalt des mit angesäuertem Wasser ausgewaschenen Gelatinekörpers gegenüber dem bedeutend höheren des mit reinem Wasser behandelten. Es läßt sich diese Erscheinung sowie das verschiedene Verhalten der beiden Körper unter anderem dadurch erklären, daß Gelatine Quecksilbersalz absorbiert und sich beim Waschen mit reinem Wasser eine basische Quecksilberverbindung bildet, die durch verdünnte Säure wieder gelöst wird.

Eine weitere Erscheinung, die nur der mit reinem Wasser behandelte Körper gab, ist interessant. Trocknet man denselben nämlich statt an der Luft, bei 100° im Trockenschrank, so war nach einer Stunde die weiße Farbe verschwunden und die Gelatine wieder durchsichtig und schwach trüb. Beim weiteren Trocknen bei der gleichen Temperatur bilden sich bald dunkle Flecken und nach ca. 4 Stunden ist die Gelatine gleichmäßig tief schwarz.

Es ist anzunehmen, daß die Schwärzung des Gelatinekörpers aus Quecksilbersulfid, Quecksilberoxydul oder aus metallischem Quecksilber besteht, das wahrscheinlich dadurch entstanden ist, daß die in der Gelatine aus ihrem Herstellungsprozeß noch, wenn auch nur in sehr geringen Mengen vorhandene schweflige Säure das Quecksilbersalz reduzierte. Tatsache ist, daß eine Gelatine, die vor der Einwirkung von Quecksilbernitratlösung gut gewässert war, diese Erscheinungen nicht gab. Eine Millonreaktion war von dem schwarzen Gelatinekörper nicht zu erhalten, wie er auch sich in Wasser oder verdünnter Säure nicht mehr löste. Mit stärkerer Salpetersäure wird er klar und durchsichtig, um dann vollständig in Lösung zu gehen.

Verhalten von Gelatine gegen Quecksilberacetatlösung.

Behandelt man Gelatine mit Quecksilberacetatlösung, so beginnt sie wenig zu quellen, wird jedoch bald spröd und leicht getrübt. Beim Auswaschen mit reinem Wasser verändert sich der so erhaltene Körper im Gegensatz zu dem, durch Einwirkung von Quecksilbernitratlösung auf Gelatine erhaltenen, nicht. Beim

Trocknen im Trockenschrank wird er schwarz und metallisch glänzend. Der schwarze Körper hat die Fähigkeit zu quellen verloren, gibt die Millonreaktion nicht mehr und zeigt im übrigen die gleichen Eigenschaften, wie der mit Quecksilbernitrat erhaltene.

Verhalten von Gelatinelösung gegen Quecksilbernitratlösung.

Eine 5%ige Gelatinelösung wurde im Dampftopf 1 Stunde auf 2,5 Atm. erhitzt, um ein Wiedererstarren zu verhindern. Auf Zusatz von Quecksilbernitratlösung fiel eine weiße, sich zu einem Klumpen zusammenballende, elastische, knetbare Masse aus, die sich beim Rühren fest um den Glasstab legt. Nach dem gründlichen Auswaschen bis zum Verschwinden der Diphenylaminreaktion auf Salpetersäure wurde der Körper auf Ton und an der Luft getrocknet. Nach dem Trocknen war er schmutzig gelb, hornig und derartig hart, daß er nicht zu pulverisieren war. Bei der Analyse gab er folgende Zahlen:

Trockensubstanzbestimmung

Wassergehalt . . . . . 14,07 %.

Quecksilberbestimmung

angew. Subst. . . . . 0,7224 gr
Quecksilbersulfid . . . . . 0,1424 gr
Quecksilber . . . . . 0,0123 gr
= 8,64 %; auf Trockensubstanz berechnet 10,06 %.

Eine weitere Fällung von Gelatinelösung mit Quecksilbernitrat wurde in der Wärme vorgenommen,

um die dadurch entstehenden Einflüsse auf die Quecksilberaufnahme zu untersuchen, wobei es sich ergab, daß Wärme die Quecksilberaufnahme begünstigt, welche Erscheinung in den späteren Kapiteln bei der Eiweißfällung mit Quecksilbersalzen noch näher behandelt werden soll. An dieser Stelle sei nur der Fällungsvorgang und die Analyse angeführt: 2,5 gr. Gelatine wurden in 125 ccm heißem Wasser gelöst und bei ca. 40° mit Quecksilbernitrat gefällt. Es entsteht der gewöhnliche Niederschlag, der nach eintägigem Stehen ausgewaschen wurde; nach dem Trocknen wurde analysiert.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	1,1696 gr
Verlust beim Trocknen . . .	0,1816 gr
Wassergehalt	15,52 %

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,4872 gr
Quecksilbersulfid	0,1004 gr
Quecksilber	0,0866 gr
	= 17,78 %.

Quecksilber auf Trockensubstanz berechnet: 21,04 %.

Da die durch Fällen mit Quecksilbernitrat erhaltenen Körper nur sehr schwer durch tagelanges Wässern von der anhaftenden Salpetersäure zu befreien waren, und durch Fällen mit Quecksilberacetat leichter zu reinigende Körper erhalten werden konnten, wurden weitere Fällungen mit Quecksilberacetat vorgenommen.

Verhalten von Gelatinelösung gegen Quecksilberacetatlösung.

Eine 5%ige Gelatinelösung, die ebenfalls zur Verhinderung der Wiedererstarrung eine Stunde im Dampftopf auf 2,5 Atm. erhitzt war, wurde mit Quecksilberacetat versetzt. Es entsteht nur eine leichte Trübung. Erst auf Zusatz von Kalium-, Natrium- oder Ammoniumacetat bildet sich ein Niederschlag, der beim Rühren stärker wird, und sich zu einem elastischen Klumpen um den Glasstab ballt.

Diese Erscheinung läßt sich als Elektrolytfällung eines Kolloids erklären.

Die Fällung wurde ebenso wie mit Quecksilbernitrat ausgeführt.

Es wurden also 2,5 gr Gelatine in heißem Wasser gelöst und bei 40° mit Quecksilberacetatlösung versetzt. Auf Zusatz von Ammoniumacetat entstand eine reichliche Fällung, die nach dem völligen Auswaschen getrocknet wurde. Bei der Analyse ergaben sich folgende Zahlen:

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	1,9711 gr
Verlust beim Trocknen . . .	0,0859 gr
Wassergehalt	4,34 %.

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,7736 gr
Quecksilbersulfid	0,2068 gr
Quecksilber	0,1775 gr
	= 22,94 %
auf Trockensubstanz berechnet	24,09 %.

Aus den mit Quecksilbergelatinekörpern angestellten Analysen ist zu ersehen, daß der Quecksilbergehalt je nach den Versuchsbedingungen verschieden war, was demgemäß bei den in dem nächsten Kapitel behandelten Körpern, die bei der Millonreaktion entstehen, von Bedeutung ist.

Millonreaktion der Gelatine.

Ebenso wie bei der Einwirkung von Quecksilbersalzlösung auf Gelatine treten verschiedene Erscheinungen auf, je nachdem man die Millon'sche Reaktion auf feste Gelatine oder auf deren wäßrige Lösung anstellt, weshalb auch diese Untersuchungen getrennt behandelt werden sollen.

Verhalten von trockner Gelatine gegen Millonlösung.

Behandelt man feste Gelatine mit Millon'scher Lösung, d. h. mit einer Mischung von 10 Teilen Quecksilbernitratlösung, (dieselbe wurde nach der in der Einleitung angegebenen Vorschrift hergestellt) 1 Teil einer 1 %igen Natriumnitritlösung und 1 Teil Salpetersäure 1 : 10, so tritt nach kurzer Zeit Rotfärbung ein, doch ist die Intensität der Reaktion, sowie der Quecksilbergehalt der entstehenden Millonkörper je nach den Versuchsbedingungen verschieden.

Gelatine wurde in Millonlösung gelegt, nach kurzer Zeit begann die Reaktion und nach ca. 3 tägigem Stehen war die stark gequollene Gelatine gleichmäßig blaßrot und völlig undurchsichtig. Nach dem gründlichen Auswaschen bis zum Verschwinden der Quecksilber- und Salpetersäurereaktion wurde an der Luft getrocknet.

Nach dem Trocknen war der Körper dunkelrot und durchsichtig. Seine Analysenzahlen sind folgende:

Trockensubstanzbestimmung

angew. Subst.	1,3622 gr
Verlust beim Trocknen	0,2482 gr
Wassergehalt	18,22 %.

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,4495 gr
Quecksilbersulfid	0,0676 gr
Quecksilber	0,0539 gr
	= 11,99 %
auf Trockensubstanz umgerechnet	14,66 %.

Eine zweite Gelatine wurde ca. 1 Stunde in Wasser quellen lassen, dann 3 Tage in Millonlösung gelegt, sie wurde blaßrot, trüb und schwach durchsichtig. Nach dem Auswaschen und Trocknen, wobei sie dunkelrot durchsichtig wurde, wurde analysiert.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	1,6118 gr
Verlust beim Trocknen	0,2969 gr
Wassergehalt	18,42 %.

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,6445 gr
Quecksilbersulfid	0,0912 gr
Quecksilber	0,0787 gr
	= 11,93 %
auf Trockensubstanz umgerechnet	14,97 %.

Eine dritte Gelatine wurde 24 Stunden in Quecksilbernitratlösung gelegt, worin sie leicht aufquillt.

Darnach wurde die Flüssigkeit entfernt, und die Gelatine mit Natriumnitritlösung übergossen und schwach angesäuert. Es entsteht sofort Rotfärbung, die nach 12stündigem Stehen sehr intensiv war. Die Gelatine blieb vollkommen durchsichtig. Nach dem vollkommnen Auswaschen und Trocknen an der Luft wurde analysiert.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	0,8992 gr
Verlust beim Trocknen	0,1906 gr
Wassergehalt	21,19 %

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,3907 gr
Quecksilbersulfid	0,0211 gr
Quecksilber	0,0139 gr
	= 3,56 %,
auf Trockensubstanz berechnet .	4,51 %.

Daß die Höhe des Quecksilbergehaltes auf die Intensität der Reaktion wenig Einfluß hat, ersieht man aus der obigen Analyse. Es können durch längere Einwirkung der Quecksilbernitratlösung auf die Gelatine und nachträgliche Behandlung mit Natriumnitrit und Säure auch Gelatinemillonkörper mit höherem Quecksilbergehalt erzielt werden, doch war dadurch das schnelle Eintreten der Reaktion oder deren in der Färbung sich ausdrückende Intensität nicht begünstigt. Die Analyse eines Gelatinemillonkörpers nach 2½ tägiger Einwirkung des Reagens ergab einen Quecksilbergehalt von 12,73 %, ohne daß sich der entstandene Körper von anderen mit niederem Quecksilbergehalt unterschied.

Eine gleich gute Millonreaktion erhält man, wenn man Gelatine mit einem Gemisch von Quecksilberacetat, Natriumnitrit und Säure behandelt, nur ist eine längere Einwirkungsdauer bis zum Ende der Reaktion nötig.

Nach dem Auswaschen und Trocknen löst sich der Gelatinemillonkörper in Wasser nicht mehr auf.

Da es ungemein schwer war, Millonkörper, die durch Einwirken von Quecksilbersalzlösung auf feste Gelatine erhalten wurden, von der anhaftenden Säure vollkommen zu befreien, wurde versucht, dieselben in Lösung durch Fällen zu erhalten.

Verhalten von Gelatinelösung gegen Millonlösung.

Mit Ausnahme von van Name, der die Millonreaktion als der Gelatine eigentümlich angibt, behaupten die meisten Forscher, daß diese Reaktion bei der Gelatine nur auf Verunreinigung mit Albumin zurückzuführen sei. Wenn dies der Fall wäre, so müßte die Gelatine sehr viel Eiweiß enthalten, weil die Reaktion ungefähr ebenso stark ist wie beim Eiweiß, und der Quecksilbergehalt der bei der Reaktion erhaltenen Körper ungefähr dem der Albuminquecksilberkörper entspricht. Um nun Gelatine rein zu halten, wurden verschiedene Reinigungsverfahren vorgenommen.

Reinigung von Gelatine.

Gelatine wurde in Wasser gelöst und im Dampftopf in Soxhlet'schen Flaschen erhitzt. Beim Erhitzen unter dem Druck einer Atmosphäre war keine Ab-

scheidung zu bemerken; bei 2 Atm. bilden sich graue Flocken. Bei höherem Erhitzen fiel nichts mehr aus.

Bemerkenswert ist, daß ein geringer Zusatz von Gelatine die Koagulationsfähigkeit einer reinen Albuminlösung beim Erhitzen im Dampftopf bedeutend erhöht. Während nämlich eine 1 %ige Albuminlösung bei 1stündigem Erhitzen auf 1 Atm. keine ausgesprochene Fällung ergab, entstand beim Wiederholen dieser Versuche unter Zusatz von nur 1 % Gelatine eine vollständige Fällung des Albumins, da die überstehende Flüssigkeit keine Eiweißreaktion mehr gab. Man könnte daran denken, daß der Gehalt der Gelatine an schwefliger Säure dabei eine Rolle spielt, doch wurde mit einer gut ausgewaschenen Gelatine das gleiche Resultat erzielt. Die Reaktion der im Dampftopf gekochten Gelatine war neutral. Man konnte also eine Gelatinelösung, die 1 Stunde lang im Dampftopf auf 2 Atm. erhitzt war, als albuminfrei bezeichnen. Trotzdem gab eine so behandelte Gelatine stets die Millonreaktion.

Moerner [1]) reinigt Gelatine auf folgende Weise: „100 gr Gelatine werden mit 1 Ltr. destilliertem Wasser, welches 20 ccm Aether enthält, digeriert, darauf 1 Ltr. 0,5 %ige Kalilauge zugesetzt und während der Dauer von 9 Tagen stehen gelassen. Schließlich wurde mit viel essigsäurehaltigem Wasser decantiert, da Auswaschen sich als unausführbar erwies. Zum Decantieren wurde von einer gelatine-reichen Masse abgehebert, diese durch Ausfrieren noch wasserärmer gemacht und schließlich auf Tontellern vorgetrocknet und

1) Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. 28, 1899.

dann auf Glasplatten vollkommen trocken werden lassen. Auch dieses Produkt gab deutlich die Millonreaktion.

Sadikoff [1]) reinigt Gelatine auf folgende Weise. Man wäscht Gelatine mit kaltem Wasser und löst dann in 20%iger Magnesiumsulfatlösung unter Erwärmen auf dem Wasserbade und filtriert die heiße Lösung unter Anwendung eines Heißwassertrichters. Nach dem Erkalten wird das Filtrat trüber und scheidet einen flockigen Niederschlag aus. Man gibt jetzt ohne vorheriges Filtrieren zu der abgekühlten Lösung 0,5%ige Säure (Salzsäure oder Schwefelsäure), welche in 20%iger Magnesiumsulfatlösung bereitet ist, zu; es entsteht eine voluminöse Fällung, welche sich gut absetzt, gut abfiltrieren und nachwaschen läßt. Die mit kaltem Wasser gewaschene schleimige Masse wird in heißem Wasser gelöst, abgekühlt und mit schwacher Salzsäure versetzt, jedoch in der Weise, daß die Konzentration der Salzsäure in der gesamten Lösung nicht 1% übersteigt; man gibt dann 3—4 Volumen starken Alkohols dazu, sodaß der Leimstoff in 70—80%igem saurem Alkohol gelöst wird. Um die Konzentration des Glutins zu erhöhen und dabei nicht zu viel Salzsäure einzuführen, kann man bis zu einigen Prozenten Essigsäure hinzufügen. Sollte die saure alkoholische Leimstofflösung trübe sein, so filtriert man die Lösung durch Tierkohle. Man schlägt das gesamte Glutin dann durch Neutralisation mit Ammoniak nieder, läßt einige Zeit stehen, gießt den Alkohol ab und wäscht mit Wasser oder mit Alkohol nach.

---

1) Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. 46, 1905 und Bd. 48, S. 138, 1906.

Das so erhaltene Glutin gab eine sehr schöne Millonreaktion.

Ebenfalls nach den Angaben Sadikoffs [1]) wurde Gelatine auf folgende Weise aus Kalbsknochen hergestellt. Nicht entfettete Knochen (Knorpelsubstanzen sind vorher zu entfernen) werden zerkleinert, eventuell in eine breiartige Masse zerquetscht; sie werden mit Salzsäure (1 : 3) so lange behandelt, als noch Salze extrahiert werden können; dazu ist es nötig die Säure mehrmals täglich (2—3 mal) zu wechseln und von Zeit zu Zeit umzurühren. Die auf der Oberfläche sich abscheidende Fettschicht wird abgehoben. Die hyaline Masse, welche von den meisten Salzen und Fetten befreit ist (was durch 7—8 tägiges Behandeln erreicht wird), wird einige Male in kaltem Wasser nachgewaschen und in eine 1—3 %ige Lösung von Aetznatron überführt. Hierbei lösen sich alle Albuminstoffe, Mucin, Nucleoproteide usw., und es fallen die Überreste des phosphorsauren Calciums als eine feine Suspension aus; außerdem geht eine Verseifung der geringen noch anhaftenden Fettreste vor sich. Nach 3maligem Wechseln der alkalischen Lösung und kurzem Nachwaschen mit kaltem Wasser werden alle gelösten Eiweißstoffe und Seifen beseitigt. Die alkalisch reagierende hyaline Masse wird in eine siedende 1 %ige Lösung von Monochloressigsäure gebracht; es findet eine schnelle Umwandlung der leimgebenden Substanz in den Leimstoff statt. Die heiße konzentrierte Lösung wird durchgeschlagen event. filtriert, mit Magnesiumsulfat aus

---

1) Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. 48, S. 130.

saurer Lösung ausgesalzen und mit kaltem Wasser und Alkohol von Säure und Salzen befreit.

Auch dieses so erhaltene Produkt gab die Millonreaktion. Man muß daher wohl annehmen, daß die Millonreaktion der Gelatine eigen ist.

Herstellung des Gelatinemillonkörpers.

Um ein möglichst gleichmäßiges Produkt zu erhalten, wurde folgendermaßen verfahren. Eine ca. 5%ige Gelatinelösung wurde 1 Stunde bei 2 Atm. im Dampftopf gekocht. Von der Ausscheidung wurde abfiltriert und nach dem Erkalten die Gelatine mit Quecksilbernitrat gefällt, mit der entsprechenden Menge Natriumnitrit versetzt und in der gerade zur vollständigen Lösung notwendigen schwachprozentigen Essigsäure unter stetem kräftigen Rühren oder Schütteln, um einen Überschuß von Säure tunlichst zu vermeiden, gelöst. Nach kurzem Stehen begann die Reaktion, die nach 1 bis 2 tägiger Dauer beendigt war. Auf diese Weise erhielt man eine tiefrote Lösung. Um nun aus dieser das Reaktionsprodukt zu erhalten, war es nur nötig, die essigsaure Lösung zu neutralisieren und zwar mit möglichst verdünnter Natronlauge. Ein Überschuß von Lauge muß unbedingt vermieden werden, da der beim Neutralisieren ausfallende Körper leicht in Lauge löslich ist. Auf Zusatz von Natronlauge entsteht zunächst eine Trübung, aus der beim Rühren ein sich fest um den Glasstab ballender roter elastischer Klumpen entsteht.

Fällt man den Körper auf einmal aus, so erhält man kein einheitliches Produkt, sondern die Fällung

enthält noch Teile eines schwach roten oder weißen Körpers, der aus noch wenig, oder gar nicht angegriffener Quecksilbergelatine besteht, derselbe wird, aufs neue mit Millonreagens behandelt, ebenfalls einheitlich rot.

Um diese Verunreinigung des Reaktionskörpers zu vermeiden, empfiehlt es sich, anfangs nur wenig Natronlauge zuzusetzen und die dadurch entstehende einheitlich rotgefärbte Fällung allein zu verarbeiten, also sozusagen fraktioniert auszufällen.

Nach dem Auswaschen der Fällung am besten in fließendem Wasser bis zum Verschwinden der Salpetersäurereaktion wurde der Körper auf einer Glasplatte getrocknet. Der getrocknete Körper ist tiefrot und von horniger Beschaffenheit, sodaß er sich nur schwer pulverisieren läßt. Die mit solchen Körpern angestellten Analysen gaben niemals konstante Zahlen. Nachstehend einige Analysen.

I.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	2,1889 gr
Verlust beim Trocknen	0,3043 gr
Wassergehalt	13,9 %

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,5129 gr
Quecksilbersulfid	0,0505 gr
Quecksilber	0,0435 gr
	= 8,48 %,
auf Trockensubstanz umgerechnet	9,85 %.

II.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	1,1260 gr
Verlust beim Trocknen	0,1867 gr
Wassergehalt	16,6 %

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,3545 gr
Quecksilbersulfid	0,0889 gr
Quecksilber	0,0766 gr
	= 21,61 %,
auf Trockensubstanz berechnet	25,91 %.

Der auffallend verschiedene Quecksilbergehalt ist eine Folge der verschiedenen Reaktionsdauer, auf welche Erscheinung im weiteren Verlauf dieser Arbeit beim Behandeln des Albuminmillonkörpers noch näher eingegangen werden soll.

Auf gleiche Weise wie mit Quecksilbernitrat den Gelatinemillonkörper mit Quecksilberacetat zu erhalten, mißlang. Es entsteht zwar nach einiger Zeit eine Reaktion, doch ist die Farbe der Lösung schmutzig rot; auf Zusatz von Natronlauge entstand sofort Zersetzung. Um event. Tyrosin, dem man die Millon'sche Reaktion zuschreibt, als Zersetzungsprodukt zu finden, wurde Gelatine verschiedenartig zerlegt.

Vorher seien noch verschiedene andere Eiweißreaktionen mit Gelatine angeführt:

Eiweissreaktionen mit Gelatine.

Die Xanthoproteinreaktion gibt die Gelatine, wenn auch nur schwach.

Nicht erhalten wurden die Reaktionen von Adamkiewicz und Liebermann.

Auch die sehr empfindliche Eiweißreaktion von Acree[1]) wurde nicht erhalten. Diese Reaktion wird derart ausgeführt, daß man ca. 0,1 gr der auf Eiweiß zu prüfenden Substanz mit 0,1 ccm einer Formaldehydlösung (1 : 5000) 2 bis 3 Minuten lang digeriert und dann mit 0,5 ccm konz. Schwefelsäure überschichtet. Beim Vorhandensein von auch nur geringen Spuren von Eiweiß bildet sich an der Berührungsstelle ein violetter Ring.

Die Biuretreaktion gibt die Gelatine, auch die gereinigte, sehr intensiv mit dunkelvioletter Farbe.

Untersuchung von Spaltungsprodukten der Gelatine auf die Millon'sche Reaktion.

Um zu sehen, ob die Produkte, die bei der Hydrolyse der Gelatine entstehen, ebenfalls die Millonreaktion geben, und um event. Tyrosin nachzuweisen, wurde Gelatine auf verschiedene Art hydrolysiert.

Versuche mit Peptonchlorhydrat.

Peptonchlorhydrat wurde nach Angabe von Paal[2]) auf folgende Weise hergestellt: 100 Teile Glutin

1) Americ. chem. Journ., 1907. S. 604.
2) Ber. 1892, Bd. 1, S. 1202.

wurden mit einer Mischung von 160 Teilen Wasser und 40 Teilen konzentierter Salzsäure übergossen. Beim Erhitzen auf dem Wasserbade trat rasch Lösung zu einer gelblich gefärbten Flüssigkeit ein, die unter häufigem Rühren eingeengt wurde, bis eine herausgenommene Probe sich in einem großen Überschuß von absolutem Alkohol löslich erwies. Das dickflüssige Reaktionsprodukt wurde hierauf mit dem 4 bis 5fachen Volumen Alkohol vermischt. Es entstand eine trübe Lösung, die nach einigem Stehen einen geringen Niederschlag absetzte, der aus in der Gelatine enthaltenen anorganischen Bestandteilen entsteht. Aus der filtrierten Lösung wurde das Peptonsalz mit dem 2 bis 3fachen Volumen Aether in Gestalt weißer käsiger Flocken oder Gerinnsel abgeschieden. Der Niederschlag wurde in absolutem Alkohol aufgenommen und dieser im Vakuum abdestilliert. Um den Körper von Wasser zu befreien, wurde dieser Vorgang dreimal wiederholt, und das zurückbleibende bräunlich gefärbte Chlorhydrat auf Ton und im evakuierten Exsiccator ca. 8 Tage getrocknet. Das schwachgelbe Pulver gab bei 1,5540 gr angewandter Substanz einen Wassergehalt von 1,69 % und bei 1,4210 gr angewandter Substanz einen Aschegehalt von 0,44 % auf Trockentubstanz berechnet. Dieser Aschegehalt entspricht einem der von Paal angegebenen und von ihm bestimmten Körper. Auch dieses Produkt gab entgegen den Angaben Paals, der nur die Biuretreaktion erhalten hat, die Millonreaktion sehr stark.

Versuche mit Glutinpepton.

Ein von Dr. Grübler, Dresden, bezogenes Glutinpepton gab bei der Analyse folgende Zahlen:

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	1,6594 gr
Verlust beim Trocknen	0,2007 gr
Wassergehalt	12,48 %

Aschebestimmung

angew. Substanz	0,8700 gr
Rückstand beim Veraschen. . .	0,0650 gr
Aschegehalt	7,47 %.

Glutinpepton löst sich spielend leicht in Wasser, mit Quecksilbernitrat entsteht ein voluminöser Niederschlag mit einem außerordentlich hohen Quecksilbergehalt. Die Analyse ergab folgende Zahlen:

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	1,3191 gr
Verlust beim Trocknen	0,1494 gr
Wassergehalt	11,33 %

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,4990 gr
Quecksilbersulfid	0,1436 gr
Quecksilber	0,1237 gr
	= 24,84 %
auf Trockensubstanz berechnet	28,01 %.

Der Millonkörper des Glutinpepton wurde ebenso wie

der der Gelatine hergestellt. Es wurden 10 gr Glutinpepton in 250 ccm Wasser gelöst, mit 100 ccm Quecksilbernitratlösung gefällt und der aus einem Klumpen bestehende Niederschlag unter stetem Schütteln in Essigsäure gelöst. Die Lösung wurde mit 10 ccm Natriumnitrit versetzt, nach ca. 24 stündigem Stehen war dieselbe schön dunkelrot. Auf Zusatz von verdünnter Natronlauge fiel ein gleichmäßig dunkelroter amorpher Körper aus, der nach dem vollkommenen Auswaschen auf Ton getrocknet wurde. Seine Analyse ergab folgende Zahlen:

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	2,7353 gr
Verlust beim Trocknen	0,4765 gr
Wassergehalt	17,41 %

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,9885 gr
Quecksilbersulfid	0,2848 gr
Quecksilber	0,2455 gr
	= 24,84 %

auf Trockensubstanz umgerechnet 30,07 %.

Hydrolyse von Peptonchlorhydrat.

Ein Teil des nach Angaben Paals gewonnenen stark hygroskopischen Präparats wurde nach der Methode E. Fischers [1]) folgendermaßen hydrolysiert.

---

1) Zeitschr. für physiol. Chemie, 1902, Band 35, S. 72.

Es wurden 45 gr Peptonchlorhydrat 6 Stunden mit 135 gr konzentrierter Salzsäure am Rückflußkühler gekocht. Die Salzsäure wurde im Vakuum weggedampft und der Rückstand mehrere Male auf dem Wasserbad mit Wasser eingedampft. Die dunkelbraun gefärbte Maggiwürze ähnlich riechende Flüssigkeit gab die Millon'sche Reaktion.

Zur weiteren Reinigung wurde nach dem vollständigem Wegdampfen des Wassers der Rückstand in absolutem Alkohol aufgenommen und derselbe im Vakuum abgedampft, welche Reinigung dreimal wiederholt wurde. Der Alkoholextrakt wurde nach dem Lösen in Wasser mit 250 ccm 10%iger Phosphorwolframsäure gefällt. Nach dem Auswaschen des dadurch entstehenden Niederschlages mit verdünnter Schwefelsäure wurde zur Entfernung der Phosphorwolframsäure mit Barytwasser auf dem Wasserbade gekocht. Von dem ausgefallenen phosphorwolframsauren Barium wurde abfiltriert und mit heißem Wasser nachgewaschen. Das schwach gelblich gefärbte Hydrat gab ebenfalls die Millonreaktion.

Hydrolyse von Gelatine mit Flusssäure.

L. Hugounnenque und A. Morel [1]) empfehlen zur Hydrolyse von Eiweißsubstanzen die Anwendung von Flußsäure.

Nach ihnen haben die sonst gebräuchlichen Hydrolyte folgende Nachteile:

Baryt zerstört das Arginin und die Diamine.

---

1) Compt. rend. 1908, Nr. 24.

Schwefelsäure wirkt zerstörend durch Bildung von Ammoniak sowie von Teer- und Huminsubstanzen.

Salzsäure verkohlt die Eiweißsubstanzen, zerstört das Tyrosin und oxydiert die Purinbasen.

Als besonderen Vorteil der Hydrolyse mit Flußsäure geben die Forscher an, daß dieselbe so vollständig wie möglich sei, d. h. bis zum Verschwinden der Biuretreaktion und dem Fehlen jeden Polypeptides. Außerdem wird jede Ammoniakbildung ferngehalten und das hydrolytische Agens ist mit kohlensaurem Kalk sehr leicht zu entfernen.

Der Hauptvorteil soll der sein, daß die Monoamidosäuren nicht zerstört werden, und daß nach Beseitigung der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen Tyrosin und die Leucinsubstanzen vollständig kristallisiert erhalten werden.

Besonders aus diesem letzten Grunde, also um Tyrosin entweder zu erhalten oder doch wenigstens als bestimmt vorhanden nachzuweisen, wurde die Hydrolyse von Gelatine mit Flußsäure vorgenommen.

Zu diesem Zwecke wurden 500 gr beste Handelsgelatine (Golddruck) in einem 3 Ltr. fassenden Bleigefäß mit aufschraubbarem Deckel, in den oben ein Rückflußkühler, dessen inneres Rohr ebenfalls aus Blei war, mündete, in 1500 ccm ca. 23 %iger Flußsäure gelöst. Nach der vollständigen Lösung der Gelatine war die Masse dickflüssig.

Nach dem Zusammenstellen des Apparates wurde ca. 48 Stunden im Wasserbade gekocht.

Nach dieser Zeit konnte die Reaktion als beendigt angesehen werden, da die Lösung keine Biuretreaktion mehr gab.

Die vorher zähe Masse war jetzt leichtflüssig und dunkelbraun gefärbt, ohne daß sich jedoch feste Huminabscheidungen gebildet hätten.

Der Angabe der Autoren, daß sich bei der Hydrolyse kein Ammoniak bildet, muß widersprochen werden, da dasselbe in vorliegendem Falle reichlich vorhanden war.

Zur Entfernung der Flußsäure wurde allmählich mit der berechneten Menge kohlensaurem Kalk — in diesem Fall 825 gr — gefällt. Es ist zweckmäßig, das angewandte Bleigefäß möglichst groß zu nehmen, damit die Fällung der Flußsäure gleich in demselben vorgenommen werden kann.

Von dem Niederschlag wurde abgenutscht und mit heißem Wasser so lange nachgewaschen, bis eine Probe des Filtrats beim Verdampfen auf dem Platinblech keinen Rückstand mehr hinterließ. Das Filtrat wurde mit den Waschwässern zusammen eingedampft und zum Entfärben mit Tierkohle gekocht. Eine völlig farblose Lösung war jedoch dabei nicht zu erzielen. Die schwach gelbliche Flüssigkeit wurde bis zur Syrupdicke eingedampft und im Eisschrank kristallisieren lassen. Von den massenhaft ausgeschiedenen Kristallen, die zum größten Teil aus Glykokoll bestehen, wurde abgenutscht und mit wenig — die Kristalle sind in Wasser sehr leicht löslich — Wasser nachgewaschen.

Sowohl das Filtrat wie auch die Kristalle geben eine starke Millonreaktion.

Da Hugounnenque und Morel angeben, daß nach Fortschaffung der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanz Tyrosin, wenn solches vorhanden, auskristallisiere, wurden zur Probe 75 ccm des Hydro-

lysenproduktes mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit 150 gr Phosphorwolframsäure gefällt. Der entstehende gut ausgewaschene Niederschlag gab nach Entfernung der Phosphorwolframsäure mit Baryt keine Millonreaktion mehr.

Im Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung wurde die überschüssige Säure mit Bariumhydroxyd und kohlensaurem Barium entfernt. Das Filtrat gab eine starke Millonreaktion.

Trotz der starken Rotfärbung, die zur Annahme berechtigte, daß Tyrosin reichlich vorhanden sei, gelang es nicht, dasselbe zu isolieren.

Versuche, Tyrosin zu erhalten.

Ein Teil der Hydrolysenflüssigkeit wurde mit Stutzerschen Kupferhydroxyd versetzt. Es löst sich eine große Menge davon mit dunkelblauer Farbe auf. Die Lösung wurde eingedampft, wobei sich durch irgendwelche Reduktionswirkung Kupferoxydul ausschied. Nach dem Abfiltrieren wurde bis zur Trockne eingedampft und in Alkohol gelöst; der Rückstand ging vollständig in Lösung. Nach dem Wegdampfen des Alkohols blieb jedoch nur ein schmieriges Produkt übrig.

Nach E. Fischer[1]) wird Tyrosin bei der Herstellung aus degommierter Seide dieses von den anderen Spaltungsprodukten der Hydrolyse dadurch getrennt, daß die gut getrockneten Aminosäuren mit Eisessig ausgekocht werden, wobei bei Vorhandensein

1) Anleitung zur Herstellung organischer Präparate.

von Tyrosin dasselbe ungelöst zurückbleibt, und durch Umkristallisieren aus heißem Wasser in schönen, büschelförmigen Nadeln kristallisiert.

In vorliegendem Falle wurde ein Teil des Hydrolysenproduktes gut auf Ton abgepreßt, auf dem Wasserbade vollständig getrocknet und gepulvert. Beim Auskochen mit Eisessig ging fast alles in Lösung bis auf einen kleinen Teil, der im Wasser leicht löslich war nach dem Eindampfen aber nicht kristallisiert erhalten werden konnte.

Die wäßrige Lösung gab jedoch eine deutliche Millonreaktion.

Daß die Millon'sche Reaktion als der reinen Gelatine eigentümlich angesehen werden kann, ist wohl sicher.

Anhaltspunkte dafür, welche Substanz die Millonsche Reaktion der Gelatine gibt, ließen sich leider nicht gewinnen. Tyrosin dürfte kaum in Frage kommen, da es bei der milden Hydrolyse mit Flußsäure nicht gefunden wurde.

Versuche mit Albumin aus Ei.

Hauptsächlich um die Quecksilberverbindungen von Eiweiß mit solchen der Gelatine vergleichen zu können, wurden Versuche mit getrocknetem Hühnereiweiß vorgenommen.

Einwirkung von Quecksilbersalzlösungen auf Eialbumin.

Getrocknetes Eieralbumin wurde mit Wasser übergossen. Je nach der Beschaffenheit des Präparates

erzielte man nach einigem Stehen eine mehr oder minder gute Lösung, sodaß nach dem Filtrieren eine leicht trübe opalisierende Flüssigkeit erhalten wurde. Vorliegende Versuche wurden mit getrocknetem Eieralbumin von Kahlbaum vorgenommen.

Die Albuminlösung gab mit Quecksilbernitratlösung einen starken, flockigen, amorphen Niederschlag, der sich von der anhaftenden Salpetersäure nur sehr schwer befreien läßt. Beim Abnutschen über Tuch oder Papier verstopfen sich sofort alle Poren. Am besten gelang die Reinigung durch häufiges Decantieren mit Wasser und darauffolgendes Filtrieren auf einem gewöhnlichen Filter.

Bei längerem Stehen nahm der Niederschlag eine schwachrote Färbung an, was darauf zurückzuführen ist, daß infolge des Gehaltes der Luft an salpetriger Säure eine schwache Millonreaktion entstand.

Die angestellten Versuche wurden alle mit dem noch feuchten, völlig ausgewaschenen Eiweißkörper ausgeführt, da sich derselbe in trockenem Zustand wesentlich anders verhielt.

Versuche mit dem feuchten Quecksilbereiweisskörper.

Der feuchte Quecksilbereiweißkörper ist in verdünntem Alkalien und in Ammoniak leicht löslich, aus welchen Lösungen der nämliche Körper beim Neutralisieren mit verdünnter Schwefelsäure wieder erhalten wurde. Dieser Umstand läßt erkennen, daß in dieser Quecksilbereiweißverbindung das Metall nicht etwa salzähnlich gebunden war, da sonst beim Ansäuern

Quecksilbersulfat sich hätte bilden müssen, vielmehr muß das Quecksilber in den Eiweißkern eingetreten sein, was auch folgender Versuch bewies.

Eiweißlösung wurde mit Quecksilbernitrat unter Vermeidung eines Überschusses gefällt und sofort ohne Auswaschen mit verdünnter Natronlauge versetzt. Im ersten Augenblicke entstand gelbes Quecksilberoxyd, das aber sofort wieder in Lösung ging.

Die Lösung des Quecksilbereiweißkörpers in Alkali oder Ammoniak zersetzt sich beim Stehen oder Erwärmen unter Bildung von schwarzem Quecksilbersulfid. Sofortige Zersetzung entsteht mit konzentriertem Alkali. Gegenüber Essigsäure, in welcher ebenfalls Lösung eintritt, ist der Körper sehr beständig und kann aus seiner Lösung durch Neutralisieren wieder erhalten werden.

Der nämliche Körper wie mit Quecksilbernitrat wurde durch Fällen mit Quecksilberacetat erhalten, wobei letzterem Reagens unbedingt der Vorzug zu erteilen ist, da sich die Essigsäure durch Auswaschen viel leichter entfernen läßt, als die Salpetersäure, und der Eiweißkörper infolgedessen bedeutend schneller rein zu erhalten ist.

Versuche über den Quecksilbergehalt des Quecksilbereiweisskörpers.

Gut ausgewaschene Quecksilbereiweißkörper wurden genau wie die Gelatinequecksilberkörper analysiert.

Zum Vergleich sei vorher die Analyse des verwendeten Eieralbumins angeführt.

Analyse des Eiweissalbumins.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Subst.	1,1797 gr
Verlust beim Trocknen	0,2619 gr
Wassergehalt	21,69 %

Stickstoffbestimmung

	a)	b
angew. Subst.	0,7072 gr	0,5621 gr.
Stickstoff	10,11 %	10,22 %

im Mittel auf Trockensubstanz berechnet 12,96 %.

Analysen verschiedener Quecksilbereiweisskörper.

I.

Trockensubstanzbestimmung

Wassergehalt	22,54 %

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,3927 gr
Quecksilbersulfid	0,0330 gr
Quecksilber	0,0284 gr
	= 7,23 %.

auf Trockensubstanz umgerechnet 9,33 %.

II.

Trockensubstanzbestimmung

Wassergehalt	4,23 %

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,4308 gr
Quecksilbersulfid	0,0377 gr
Quecksilber	0,0325 gr
	= 11,95 %.

auf Trockensubstanz berechnet 12,48 %.

III.

Trockensubstanzbestimmung

Wassergehalt	30,84 %

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,4383 gr
Quecksilbersulfid	0,0308 gr
Quecksilber	0,0265 gr
	= 6,07 %.

auf Trockensubstanz berechnet 8,72 %.

Der Quecksilbergehalt der Eiweißkörper ist ebenso wie der der Gelatine verschieden. Auch das Eiweiß nimmt je nach der Einwirkungsdauer der Quecksilbersalzlösungen verschiedene Mengen Quecksilber in sich auf, doch soll auf diese Erscheinungen im nächsten Kapitel näher eingegangen werden.

Fällte man eine Albuminlösung mit einem Überschuß (dieser wurde dadurch festgestellt, daß in der überstehenden Flüssigkeit kein Albumin vorhanden sein durfte) von Quecksilbernitrat oder Acetat, so fand man, daß bei längerem Stehen immer mehr Quecksiber vom Eiweiß gebunden wurde, sodaß je nach der Konzentration der Lösungen selbst bei Verwendung eines großen Überschusses an Fällungsmitteln in der überstehenden Flüssigkeit kein Quecksilber mehr nachzu-

weisen war. Das Reagens war vom Eiweiß vollständig gebunden worden.

Um zu untersuchen, in wie weit Eiweißlösung im Stande sei, Quecksilbersalzlösung zu binden, wurden folgende analytische Versuche vorgenommen.

Die zu verwendenden Lösungen bestanden in filtrierter Albuminlösung 1 : 25 und in einer Quecksilberacetatlösung der gleichen Konzentration.

Empirisch wurde festgestellt, daß 3,5—4 ccm obiger Quecksilberacetatlösung nötig waren, um 25 ccm Eiweißlösung 1 : 25 zu fällen, sodaß in der überstehenden Flüssigkeit weder Eiweiß noch Quecksilberacetat nachzuweisen war.

Es wurden in 4 Einhundertkubikzentimetermeßkölbchen je 25 ccm Eiweißlösungen 1 : 25 mit je 6 ccm Quecksilberacetatlösung 1 : 25 also mit 2 ccm mehr als zur vollständigen Fällung nötig waren, versetzt, und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt.

Analysiert wurde dann der Inhalt des ersten Kölbchens sofort, der des zweiten am 2. Tage, der des 3. am dritten Tage und der des 4. am fünften Tage nach der Fällung, und zwar in der Art, daß im Niederschlag die Menge des aufgenommenen Quecksilbers quantitativ bestimmt wurde.

Nachstehend die Analysen der verschiedenen Versuche.

Bestimmung des aufgenommenen Quecksilbers.

Analyse sofort nach der Fällung:

angew. Subst.	0,5155 gr
Quecksilbersulfid	0,0794 gr
Quecksilber	0,0684 gr

= 13,27 % (auf Lufttrockensubstanz).

Analyse am 2. Tag nach der Fällung:

angew. Subst.	0,2854 gr
Quecksilbersulfid	0,0461 gr
Quecksilber	0,0397 gr

= 13,91 % (auf Lufttrockensubstanz).

Analyse am 3. Tag nach der Fällung:

angew. Subst.	0,5366 gr
Quecksilbersulfid	0,0891 gr
Quecksilber	0,0768 gr

= 14,33 % (auf Lufttrockensubstanz).

Analyse am 5. Tag nach der Fällung:

angew. Subst.	0,5030 gr
Quecksilbersulfid	0,0841 gr
Quecksilber	0,7250 gr

= 14,41 % (auf Lufttrockensubstanz).

Vorstehende Versuche zeigen, daß die Menge des aufgenommenen Quecksilbers innerhalb weniger Tage nicht bedeutend war. Erst nach 10 tägigem Stehen und durch Zuführung von Wärme war ebenso wie bei der Gelatine die Aufnahme von Quecksilber begünstigt worden.

Es wurden in 2 Einhundertkubikzentimeterkolben je 25 ccm Albuminlösung 1 : 25 mit 6 ccm Acetatlösung 1 : 25 gefällt und bis zur Marke mit Wasser gefüllt. Der Inhalt des einen Kölbchens wurde 10 Tage stehen lassen, der des anderen wurde kurze Zeit auf die Temperatur eines siedenden Wasserbades gebracht und dann analysiert. Die Mengen des aufgenommenen Quecksilbers waren folgende:

Bestimmung des aufgenommenen Quecksilbers nach dem Kochen.

Trockensubstanzbestimmung.

angew. Subst.	0,5679 gr
Verlust beim Trocknen	0,0250 gr
Wassergehalt	4,4 %

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,5642 gr
Quecksilbersulfid	0,1140 gr
Quecksilber	0,0982 gr
	= 17,41 %

auf Trockensubstunz berechnet 18,21 %.

Bestimmungen des aufgenommen Quecksilbers nach 10 tägigem Stehen.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Subst.	1,1013 gr
Verlust beim Trocknen	0,4604 gr
Wassergehalt	41,82 %

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,6411 gr
Quecksilbersulfid	0,0763 gr
Quecksilber	0,0657 gr
	= 10,25 %

auf Trockensubstanz berechnet 18,03 %.

Aus der guten Übereinstimmung der beiden letzten Analysen geht hervor, daß in diesen Versuchen ein Maximum der Quecksilberaufnahme erreicht war und daß dieses Maximum sowohl durch langes Stehen wie durch Wärmezufuhr zu erzielen war.

Versuche mit dem getrockneten Quecksilbereiweisskörper.

Ein nach dem völligen Auswachsen auf Ton und an der Luft getrockneter Quecksilbereiweißkörper hatte eine schmutzig gelbe Farbe und löste sich weder in verdünnter Essigsäure noch in Alkali oder Ammoniak. Beim Stehen trat sehr schnell Zersetzung ein.

Einwirken von Quecksilberchlorid auf Albuminlösung.

Mit Quecksilberchlorid gab Eiweißlösung ebenfalls einen Niederschlag, der jedoch auf Zusatz von Nitrit und Salpetersäure keine Millonreaktion gab. Es scheint, daß bei der Fällung mit Quecksiberchlorid dieses als solches sich mit dem Eiweiß verbindet und das Zustandekommen der Millonreaktion verhindert.

Einwirkung von Millonreagens auf Eieralbumin.

Der Millonkörper des Albumins ist gleichgut durch Fällen mit Quecksilbernitrat und darauffolgendes Versetzen mit Natriumnitrit und Salpetersäure, wie mit Quecksilberacetat, Natriumnitrat und Essigsäure zu erhalten. Da aber der mit letzteren Reagentien erhaltene

Körper leichter zu reinigen war, wurde derselbe folgendermaßen hergestellt:

Filtrierte Albuminlösung ca. 1:30 wurde mit Quecksiberacetatlösung 1 : 25 ausgefällt und einige Zeit stehen lassen, um die Quecksilberaufnahme zu begünstigen. Die überstehende Füssigkeit wurde abgegossen und der Niederschlag nach mehrmaligem Decantieren mit Wasser auf einem gewöhnlichen Filter abfiltriert und so lange mit Wasser nachgewaschen, bis das Filtrat keine Quecksilberreaktion mehr gab. Dann wurde der Niederschlag in Wasser aufgeschlemmt, möglichst gleichmäßig verrührt, mit entsprechend viel Natriumnitritlösung — auf 10 ccm Quecksilbersalzlösung 1 ccm Natriumnitritlösung (1 %ig) — versetzt und der Niederschlag in soviel 30 %iger Essigsäure als gerade zur Lösung notwendig waren, unter stetem Rühren oder Schütteln, um einen Säureüberschuß zu vermeiden, gelöst. Nach ca. 2 tägigem Stehen war die Flüssigkeit tiefdunkelrot. Um den Millonkörper zu erhalten, kann man ebenso wie bei der Gelatine mit verdünnter Natronlauge neutralisieren. Noch einfacher ist es, die Lösung mit verdünnter Schwefelsäure zu versetzen, womit man bei der Gelatine jedoch zu keinem Ziele gelangt. Beim Fällen entstand ein rein dunkelroter Körper, der nach mehrmaligem Decantieren mit Wasser auf dem Filter so lange ausgewaschen wurde, bis das Filtrat keine Reaktion mehr gab. Getrocknet wurde auf Ton über Schwefelsäure, wobei ein tiefdunkelroter Körper entstand, dessen Quecksilbergehalt natürlich schwankend war, je nachdem man die Quecksilbersalzlösung auf die Eiweißlösung einwirken ließ. Nachstehend einige Analysen von Milloneiweißkörpern.

I.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Subst.	1,1086 gr
Verlust beim Trocknen	0,0363 gr
Wassergehalt	3,35 %

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,7915 gr
Quecksilbersulfid	0,2090 gr
Quecksilber	0,1801 gr
	= 22,75 %

auf Trockensubstanz berechnet 23,54 %.

II.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Subst.	2,2522 gr
Verlust beim Trocknen	0,2203 gr
Wassergehalt	9,78 %

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,5772 gr
Quecksilbersulfid	0,0814 gr
Quecksilber	0,0701 gr
	= 12,14 %

auf Trockensubstanz berechnet 13,46 %.

III.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Subst.	2,4322 gr
Verlust beim Trocknen	0,1210 gr
Wassergehalt	4,98 %

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,6360 gr
Quecksilbersulfid	0,0830 gr
Quecksilber	0,0716 gr
	= 11,26 %
auf Trockensubstanz berechnet	11,86 %.

Wie aus obigen Analysen zu sehen ist, ist der Quecksilbergehalt des Millonkörpers sehr schwankend, genau wie der des Gelatinemillonkörpers, doch war derselbe nie höher wie bei der Gelatine.

Reaktionen des Milloneiweisskörpers.

Ebenso wie beim Quecksilbereiweißkörper verhält sich der getrocknete Milloneiweißkörper wesentlich anders wie der feuchte.

Im feuchten Zustande löst er sich leicht mit Orangefarbe in verdünntem Alkali und mit roter Farbe in verdünnter Essigsäure, aus welchen Lösungen er beim Neutralisieren unverändert ausfiel.

Gegenüber Eisessig ist er sehr beständig. Er löste sich darin unzersetzt mit tiefroter Farbe.

An dieser Stelle sei ein Versuch angeführt, den C. J. Lintner[1]) in seiner Abhandlung „Über Mercurisalicylsäure und die Millonsche Reaktion“ beschrieben hat. Er verfuhr folgendermaßen: „Eine Albuminlösung — aus getrocknetem Eieralbumin bereitet — wurde mit Mercurinnitrat bei gewöhnlicher Temperatur gefällt und der entstandene Niederschlag bis zum Verschwinden

1) Zeitschr. f. angew. Chemie, 1900, Heft 29.

der Diphenylaminreaktion auf Salpetersäure ausgewaschen. Der Niederschlag löste sich in Natronlauge klar, ohne daß Quecksilberoxyd ausgeschieden wurde. Beim Trocknen auf Ton und schließlich über Schwefelsäure im Vakuum färbte er sich rötlich. Die getrocknete Masse wurde nun fein gepulvert, in verdünnter Natronlauge gelöst und der Lösung Natriumnitrit zugefügt. Auf Zusatz von verdünnter Schwefelsäure fiel ein weißer sich rasch rötlichgelb färbender Niederschlag, welcher mit Mercurinnitratlösung eine schöne blaurote Färbung annahm. Von einem frisch gefällten Eiweißquecksilberkörper wird diese Reaktion nicht erhalten, weshalb anzunehmen ist, daß beim Trocknen andere Bindungsverhältnisse eintreten."

Ein durch Fällen von Gelatine mit Quecksilbernitrat erhaltener getrockneter Körper zeigte dieses Verhalten nicht. Er löste sich nicht mehr in verdünnter Natronlauge, sondern es trat Zersetzung ein.

Der Milloneiweißkörper zersetzt sich beim Lösen in konzentrierter Schwefelsäure, verdünnter Salzsäure, konzentriertem Alkali, Jodkalilösung, Schwefelammonium und beim Einleiten von Schwefelwasserstoff in den in Wasser aufgeschlemmten Körper. Behandelt man den getrockneten Millonkörper mit Alkali, so entsteht nach einiger Zeit eine unvollkommene Lösung, die beim Einleiten von Schwefelwasserstoff völlig klar wird. Beim Ansäuern tritt Zersetzung ein unter Bildung von kolloidalem Quecksilbersulfid.

Unlöslich ist der Millonkörper in Soda sowie in organischen Lösungsmitteln.

Obwohl angenommen werden muß, daß der Millonkörper eine Nitrosogruppe enthält, konnte dieselbe nicht

nachgewiesen werden. Reaktionen auf dieselben wurde folgendermaßen angestellt: Die Eisessiglösung des Millonkörpers schied auf Zusatz von essigsaurem Phenylhydrazin Quecksilber aus.

Mit Hydroxylamin entstand ein weißer Niederschlag, der wahrscheinlich aus Eiweißquecksilber besteht.

Die Lösung in konzentrierter Schwefelsäure gab mit Diphenylamin keine Reaktion.

Ein völlig ausgewaschener Millonkörper wurde mit Schwefelsäure versetzt und destilliert. Das Destillat gab keine Reaktion auf salpetrige Säure mit Jodkalium und Stärkelösung.

Da alle Versuche, im Millonkörper salpetrige Säure nachzuweisen, fehlschlugen, muß man annehmen, daß falls eine ähnliche Stickstoffbindung vorhanden ist, diese bei der Zersetzung verschwindet.

Als bestimmt kann behauptet werden, daß Salpetersäure an dem Zustandekommen der Millonreaktion nicht beteiligt ist, denn dieselbe verläuft ebensogut, wenn man statt Quecksilbernitrat, Quecksilberacetat nimmt und die salpetrige Säure durch Essigsäure oder Schwefelsäure frei macht.

Versuche mit Millonreagens auf verschiedene andere Eiweisskörper.

Zum Vergleich der Art des Verlaufes der Reaktion sowie der Menge des aufgenommenen Quecksilbers wurden noch einige andere Eiweißkörper in das Bereich der Untersuchung gezogen.

Versuche mit Kristallin.

Kristallin wurde mit Quecksilberacetat und Natriumnitrit versetzt und dann in verdünnter Essigsäure gelöst. Nach ca. 7 tägigem Stehen war eine schöne dunkelrote Reaktion eingetreten. Die Lösung wurde mit verdünnter Natronlauge neutralisiert, wobei ein schöner, dunkelroter Körper ausfiel, der gründlich ausgewaschen und dann getrocknet wurde.

Seine Analyse gab folgende Zahlen:

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	0,7206 gr
Verlust beim Trocknen . . .	0,0223 gr
Wassergehalt	3,1 %.

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,9859 gr
Quecksilbersulfid	0,2264 gr
Quecksilber	0,1951 gr
	= 19,81 %
auf Trockensubstanz berechnet	20,44 %.

Versuche mit Serumalbumin.

Trocknes Serumalbumin wurde mit Quecksilbernitrat, Natriumnitrit und Salpetersäure übergossen. Nach einigem Stehen färbte sich dasselbe ungleichmäßig rotbraun, nach dem Waschen und Trocknen wurde analysiert.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Substanz	0,6480 gr
Verlust beim Trocknen . . .	0,0409 gr
Wassergehalt	6,31 %

Quecksilberbestimmung

angew. Substanz	0,5730 gr
Quecksilbersulfid	0,0870 gr
Quecksilber	13,09 %
auf Trockensubstanz berechnet	13,97 %.

Serumalbumin gibt mit Quecksilberacetat und Natriumnitrit versetzt, in Essigsäure keine vollkommene Lösung. Doch geben sowohl der Rückstand wie auch der aus der Lösung mit Natronlauge ausgefällte Körper einen schönen rotbraunen Millonkörper, welche vereinigt gewaschen, getrocknet und analysiert wurden.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Subst.	0,4064 gr
Verlust b. Trocknen . . .	0,0073 gr
Wassergehalt	1,8 %.

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,1478 gr
Quecksilbersulfid	0,0539 gr
Quecksilber	0,0464 gr
	= 31,39 %
auf Trockensubstanz berechnet	31,91 %.

Versuche mit Vitellin.

Vitellin wurde mit Quecksiberacetat, Natriumnitrit versetzt und in Essigsäure gelöst. Nach einigem Stehen entstand eine schöne rote Millonreaktion. Bei dem Neutralisieren mit Natronlauge fiel ein gleichmäßig rosaroter Körper, der nach dem Auswaschen und Trocknen folgende Analysenzahlen gab.

Trockensubstanzbestimmung

angew. Subst.	0,3707 gr
Verlust beim Trocknen . .	0,0114 gr
Wassergehalt	3,08 %.

Quecksilberbestimmung

angew. Subst.	0,3987 gr
Quecksilbersulfid	0,0625 gr
Quecksilber	0,0539 gr
	= 13,51 %
auf Trockensubstanz berechnet	14,01 %.

Aus der Art der zuletzt untersuchten Eiweißkörper ergab sich, daß dieselben ganz verschiedene Millonkörper ergaben. Speziell Serumalbumin gab einen Quecksilbergehalt, wie er nur noch beim Glutinpepton erhalten wurde. Der in Lösung erhaltene Millonkörper zeigte beim Serumalbumin einen bedeutend höheren toten Quecksilbergehalt als der durch direkte Einwirkung auf den trocknen Körper erhaltene, was wohl selbstverständlich ist, denn in Lösung kann unbedingt die Reaktion gleichmäßiger und intensiver verlaufen als bei dem trocknen Körper, weshalb auch diese Art der Herstellung des Millonkörpers in allen Fallen, wo dieselbe erreicht werden kann, vorzuziehen ist.

Zusammenfassung.

Das Ergebnis vorliegender Arbeit kann dahin zusammengefaßt werden.

I. Die Millonreaktion kann als der reinen Gelatine eigentümlich angesehen werden, da sowohl die gereinigte Gelatine, wie auch das daraus gewonnene Peptonchlorhydrat die Reaktion gaben. Wenn diese von verschiedenen Forschern nicht gefunden wurde, so ist wahrscheinlich daran der Umstand schuld, daß zur Reaktion eine Lösung benutzt wurde, wie sie Millon angab, die lange nicht die Empfindlichkeit der Lösungen besitzt, wie sie Lintner vorschreibt. Mit der Lösung letzteren Forschers wird die Millon-Reaktion bei der Gelatine und dem Peptonchlorhydrat immer erhalten.

II. Tyrosin als Träger der Millon-Reaktion konnte bei der Gelatine nicht nachgewiesen werden.

Der Umstand, daß nach der Flußsäurehydrolysenmethode, wie sie Hugounnenque und Morel angeben, kein Tyrosin gefunden wurde, läßt auf die Abwesenheit desselben entgegen der Behauptung Etards, der es, wenn auch nur in geringer Menge, bei der Hydrolyse von Ochsenknochen gefunden haben will, schließen, denn nach Angabe der beiden Forscher wird das Tyrosin von der Flußsäure nicht zerstört.

Welcher Bestandteil der Gelatine die Millonsche Reaktion veranlaßt, konnte leider nicht festgestellt werden.

III. Ein Körper von konstantem Quecksilbergehalt konnte durch Fällung von Gelatine oder Eiweiß mit Quecksilbersalzlösung nicht erhalten werden. Je nach

der Einwirkungsdauer wurden verschiedene Mengen Quecksilber aufgenommen.

IV. Quecksilber ist in den untersuchten Quecksilbergelatine- und Eiweißverbindungen nicht salzähnlich gebunden, sondern dasselbe ist in den Kern eingetreten.

V. Die Salpetersäure spielt bei dem Zustandekommen der Millonreaktion keine Rolle, da auch die mit Quecksilberacetat hergestellten Produkte mit salpetriger Säure allein die Reaktion geben.

Zweiter Teil.

Die folgenden Versuche wurden zur Ergänzung der vorherbeschriebenen im Institut für anorganische Chemie in Göttingen unter Anleitung des Herrn Professor Zsigmondy und seines Assistenten des Herrn Dr. W. Bachmann ausgeführt.

Auch an dieser Stelle möchte ich beiden Herren für ihre freundliche Unterstützung und Anregung meinen besten Dank aussprechen.

Versuche über die Aufnahme von Quecksilbernitratlösung durch Gelatine.

Bekanntlich unterliegt die Gelatine bei längerem Kochen der Hydrolyse[1]).

Sie geht dabei in eine nichtgelatinierende Modifikation von Nasse[2]) β-Glutin genannt über, wobei die spezifische Drehung beträchtlich abnimmt. Dann entstehen Leimalbumosen sogenannte Gelatosen, und Leimpeptone.

Da bei den Versuchen S. 9 und ff. die Gelatinelösung im Dampftopf auf höhere Temperatur erhitzt

1) Hammarsten Lehrbuch f. physiologische Chemie 1907 S. 39.
2) Nasse und Krüger Malys Jahrbuch 19 S. 29.

worden war, so schien es nicht unwahrscheinlich, daß die dabei eintretende Hydrolyse den Quecksilbergehalt in dem ausgefällten Gelatinekörper beeinflußt haben könnte.

Es wurde daher untersucht, ob längeres Kochen der Gelatine ihre Fähigkeit Quecksilber aufzunehmen wesentlich beeinflußt.

Diese Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt.

Nachdem empirisch festgestellt war, daß zur quantitativen Fällung von 12 ccm einer 5%igen Gelatinelösung 8 ccm einer 10%igen Quecksilbernitratlösung (Darstellung nach Lintner siehe Einleitung) nötig waren, wurden 25 gr Gelatine in 500 ccm Wasser 2 Stunden lang quellen lassen und dann bei 60° gelöst. Von dieser Lösung wurden zweimal je 12 ccm abpipetiert, und diese Proben bei einer Temperatur von 40° mit 15 ccm der Quecksilbernitratlösung, also mit 7 ccm mehr als zur Fällung unbedingt nötig war, unter stetem Umrühren, in diesem Falle mit dem Thermometer, versetzt. Es entstand der aus den vorhergehenden Versuchen bekannte, weiße, elastische, sich um den Rührer ballende Körper. Nach einer Einwirkungsdauer von 15 Minuten wurde die Lösung vom Niederschlag abgegossen, und letztere sofort zur Entfernung der Salpetersäure in Wasser gebracht.

Nach Entnahme dieser ersten Proben wurde die Gelatinelösung in einem Thermostaten bei 120° am Rückflußkühler in stetem Kochen erhalten und zu den nachstehend angegebenen Zeiten Proben zur Fällung mit Quecksilbernitratlösung entnommen.

Erste Entnahme nach ½ stündigem Kochen
Zweite „ „ 1 „ „

Dritte Entnahme nach 2stündigem Kochen
Vierte „ „ 4 „ „
Fünfte „ „ 8 „ „
Sechste „ „ 16 „ „

Diese Entnahmen wurden ebenso wie die beiden ersten behandelt, also bei 40° gefällt und nach 15 Minuten Einwirkungsdauer ausgewaschen.

Bei der Fällung zeigte sich, daß mit der Dauer des Kochens die Niederschlagsmenge bedeutend abnahm, und der Niederschlag selbst eine andere Beschaffenheit annahm. Bereits nach zweistündigem Kochen war der entstehende Körper schmutzig gelb und so klebrig, daß er nur schwer vom Rührer zu entfernen war. Auch beim Auswaschen zeigte sich Verschiedenheit. Die ersten Fällungsprodukte zeigten beim Auswässern eine Quellung dergestalt, daß sie sich mit einer feinen durchscheinenden gallertartigen Schicht umgaben. Die Fällung nach zweistündigem Kochen zeigte diese Quellung sehr wenig und die späteren überhaupt nicht mehr. Bei längerem Auswaschen schrumpfte der gequollene Anteil wieder ein.

Das Auswaschen bis zu völligem Verschwinden der Diphenylaminreaktion auf Salpetersäure nahm außerordentlich lange Zeit in Anspruch, erst nach sechswöchentlichem Auswaschen bei täglich dreimaligem Wasserwechsel konnten die Körper als zur Analyse tauglich angesehen werden.

Diese wurde derart ausgeführt, daß zunächst die Gelatinekörper im Trockenschrank bei einer konstanten Temperatur von 104° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurden, um vom Wassergehalt unabhängige Quecksilberwerte zu erhalten. Dann wurde die orga-

nische Substanz durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure zerstört, das Quecksilber als Sulfid gefällt, im Goochtigel bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen.

Die erhaltenen Zahlen zeigten keine Gesetzmäßigkeit auch nach langem Kochen der Gelatine. Nachstehend seien die Werte im Mittel angeführt.

Entnahme nach dem Lösen	.	,	13,55	% Quecksilber,
„ „	½	stündigem Kochen	11,69	„ „
„ „	1	„ „	11,93	„ „
„ „	2	„ „	12,89	„ „
„ „	4	„ „	11,04	„ „
„ „	8	„ „	12,74	„ „
„ „	16	„ „	13,71	„ „.

Diese Werte liegen in Anbetracht des Umstandes, daß es unmöglich ist, alle Entnahmen und Bestimmungen absolut gleichmäßig auszuführen, völlig im Bereich der Versuchsfehlergrenze.

Es zeigte sich die eingangs ausgesprochene Vermutung, daß sich die Quecksilberaufnahme der Gelatine beim Kochen ändere, nicht bestätigt. Die Hydrolyse hatte keinen Einfluß auf die Aufnahmefähigkeit von Quecksilber durch Gelatine.

Aus dem Umstand, daß beim andauernden Kochen der Gelatine der Niederschlag derselben mit Quecksilbernitratlösung immer geringer wird, kann angenommen werden, daß die späteren Abbauprodukte der Gelatine keinen Niederschlag mehr mit Quecksilbernitrat geben, sondern daß die dabei entstehende Fällung von unveränderter Gelatine oder deren ersten Abbauprodukten herrührt. Für letztere Annahme spricht

der Umstand, daß die späteren Quecksilberkörper mit den zuerst erhaltenen nicht identisch sind.

Interferometrische Untersuchung von Gelatinelösungen.

Die Veränderungen, welche Gelatine beim Kochen erleidet und welche zum größten Teil auf chemische Veränderung (Bildung von Gelatosen) zurückzuführen sein dürfte, macht sich, wie schon verschiedene Forscher, z. B. S. J. Lewites [1]) und P. v. Schröder [2]) festgestellt haben, auch physikalisch bemerkbar durch Änderung in den Werten der inneren Reibung derartiger Lösungen und durch Abnahme der spezifischen Drehung, Nasse und Krüger [3]). Es lag der Gedanke nahe, daß auch einige andere Eigenschaften durch die Hydrolyse beeinflußt werden könnten, so z. B. der Brechungsindex, dessen Werte ein Bild von dem Verlauf der Hydrolyse zu geben vermöchten. Für diese Bestimmungen waren die gewöhnlich gebräuchlichen Refraktometer natürlich nicht geeignet, doch stand im Institut ein Zeiß'sches Flüssigkeits-Interferometer nach Löwe [4]) zur Verfügung, welches die Veränderungen des Brechungsindex mit großer Genauigkeit zu erkennen gestattet.

Zur Untersuchung wurde eine 0,5prozentige Gelatinelösung benutzt, da eine höhere Konzentration nicht im Meßbereiche des Instrumentes lag.

---

1) Koll. Z. 2, 1907, H. 6, S. 161, Heft 7, S. 200.
2) Zeitschr. für phys. Chem. 45, 1903, S. 75.
3) Malys Jahrb. 19, S. 29.
4) Beschr. siehe Koll. Z., Bd. 9, H. 5, S. 226.

Es wurden also 5 gr Gelatine in 1000 ccm Wasser zwei Stunden quellen lassen, bei 60° gelöst und sofort eine Probe zu interferometrischen Untersuchungen entnommen. Dann wurde die Lösung in Thermostaten am Rückflußkühler bei 120° Außentemperatur gekocht. Da ein Verdunsten des Wassers unbedingt eine Veränderung des Ablesungswertes zur Folge gehabt hätte, wurden die Entnahmen mit Hilfe einer langen Pipette durch den Rückflußkühler gemacht und in einem verschlossenen 25 ccm Meßkolben erkalten lassen. Auf diese Weise konnte ein Verdunsten des Wassers, wenn auch nicht ganz, so doch so vermieden werden, daß die entstehenden Verluste innerhalb der erlaubten Fehlergrenze blieben.

Untersucht wurde in der Zweicentimeterkammer des Interferometers bei einer Temperatur von 15° im konstanten Raum und zwar nach

1	stündigem	Kochen
5	»	»
8	»	»
80	»	»
150	»	»

Bei diesen Versuchen zeigte es sich, daß das andauernde Erhitzen von Gelatine keine Veränderung des Brechungsindex der Lösung hervorrief. Die abgelesenen Werte bewegten sich alle im Bereich der Fehlergrenzen.

Ebenso wurden die von Marc [1]) bereits angestellten Versuche über den Einfluß der Zustandsände-

1) Ch. Z. 1912. 58, S. 537.

rung von Gelatine auf ihren Brechungsindex nochmals wiederholt, indem eine 0,5 prozentige Gelatinelösung längere Zeit der Eisschranktemperatur ausgesetzt wurde.

Die Angabe Marcs, daß die Zustandsänderung von Gelatine ohne Einfluß auf ihren Brechungsindex sei, konnte bestätigt werden.

Es zeigt sich also hier ein gleiches Verhalten der Gelatine, ob dieselbe nun längere Zeit abgekühlt oder erhitzt wurde, trotzdem durch diese Behandlung bekanntlich der Zerteilungsgrad der Gelatine außerordentlich geändert werden kann, und durch längeres Kochen auch eine chemische Veränderung eintritt.

Untersuchung von Gelatinegerinnungen im Ultramikroskop.

Der bei der Fällung von Gelatinelösung mit Quecksilbernitrat gebildete eigenartige Körper gab die Veranlassung, ihn ultramikroskopisch zu untersuchen, um zu sehen, ob derselbe ähnliche Strukturbilder geben würde, wie die Gerinnungen der Gelatine mit absolutem Alkohol oder 0,5 prozentiger Chromsäurelösung [1]).

Gießt man eine 10 prozentige Gelatinelösung in dünnem Strahle in absolutem Alkohol, 0,5 prozentige Chromsäure, oder in 10 prozentige Quecksilbernitratlösung, so entstehen ganz verschiedene Körper. Mit absolutem Alkohol entsteht ein weißer, schwammiger Körper, mit Chromsäure eine gelbe flockige Fällung und mit Quecksilbernitrat schlauchähnliche myelinartige an der Oberfläche schwimmende Gebilde.

---

1) Zsigmondy Kolloidchemie S. 249 u. ff.

Zu den ultramikroskopischen Untersuchungen schien die käufliche Gelatine einer Reinigung bedürftig, da sonst die massenhaft auftretenden „optischen Verunreinigungen“ das Bild der Struktur verschleiert hätten. Zu diesem Zweck wurde die Filtration durch eine Pukallzelle angewandt, wodurch, wenn auch nicht alle, so doch die meisten Verunreinigungen beseitigt werden konnten.

Untersuchungen im Kardioidultramikroskop von Siedentopf.

Zu diesen Untersuchungen wurde 10 prozentige nach obiger Methode filtrierte Gelatinelösung in flüssigem Zustande auf den Sockel des Quarzobjektträgers gebracht, mit einem doppelt durchbohrten Quarzdeckglas verschlossen und erstarren lassen. Im Ultramikroskop zeigten sich hellglänzende „optische Verunreinigungen“, die wohl aus Staub bestehen, von einer Struktur oder einer Andeutung derselben war nichts zu bemerken[1]). Das Präparat wurde dann einen Tag lang in die 10 prozentige Quecksilbernitratlösung gelegt, so daß dieselbe durch die Löcher des Deckglases in die Gelatinegallerte hineindiffundieren konnte.

Im Ultramikroskop zeigte sich eine äußerst feinkörnige Struktur ähnlich der einer 2—3 prozentigen Gelatinegallerte, doch war es nicht möglich, selbst bei intensiver Beleuchtung und langer Belichtungs-

1) Bachmann, Zeitschr. für anorg. Chem. 73, 1911, S. 140.

dauer (bis zu 30 Minuten) brauchbare Photogramme zu erhalten.

Es wurde deshalb zur Erlangung gröberer Strukturen auf die nachstehend beschriebenen beim konzentrischen Kugelkondensor von Jentzsch angewandte Methode übergegangen.

Untersuchung mit dem Kugelkondensor von Jentzsch.

10prozentige filtrierte Gelatinelösung wurde in viskösem Zustande auf einen Objektträger gebracht und mit einem Deckglas bedekt. Bevor die Gallerte erstarren konnte, wurde das Deckglas seitlich abgezogen, so daß es mit einer sehr dünnen und gleichmäßigen Gelatineschicht bedeckt war. Dieses Deckglas wurde in 10prozentige Quecksilbernitratlösung gelegt, wobei sofort eine weiße Gerinnung entstand.

Bei der Anwendung des konzentrischen Kugelkondensors von Jentsch wurden mit Zeitz-Objektiv 6a, Okular 3, Bild 1 und 2 der beigelegten Tafel erhalten.

Die darauf sichtbaren Strukturen können nach Bütschli als „schaumig-wabig“ bezeichnet werden und sind ähnlich denen, wie sie Bütschli [1]), sowie Bachmann [2]) mit absolutem Alkohol oder 0,5prozentiger Chromsäure erhalten haben.

Läßt man das Deckglas mit Gelatine statt es sofort in die Quecksilbersalzlösung zu bringen, zuerst

---

1) Untersuchungen über Strukturen und Atlas dazu Leipzig 1898.
2) l. c. S. 125—172.

kurze Zeit (1 Minute) im Dampfraum erstarren so erhält man feinere Strukturen, wie sie Bild 3 und 4 zeigt. Ähnliche Unterschiede beim Behandeln von flüssiger oder erstarrter Gelatine hatte bereits Bütschli festgestellt [3]).

Die Entstehung der Strukturen, wenigstens die bei der Behandlung mit Alkohol läßt sich nach Bachmann [4]) dadurch erklären, daß der Alkokol durch die feinen Kapillaren der Gelatinegallerte in dieselbe eintritt und die Gallertteilchen durch Wasserentziehung zum Schrumpfen bringt, wobei sich dieselben zu mehreren agglomerieren unter Bildung der Gerinnungskörner. Dabei entstehen in Gel größere kapillare Räume, welche die mikroskopische Struktur ergeben. Es handelt sich hierbei um eine typische reversible Gerinnung, da durch Wasserzufuhr die Gelatine wieder ihre frühere Beschaffenheit erlangt.

Bei der Behandlung mit 0,5 prozentiger Chromsäure oder mit Quecksilbernitratlösung dagegen entsteht eine regelrechte irreversible Fällung.

Es ist interessant, festzustellen, daß die dabei entstandenen sichtbaren Strukturen den mit Alkohol erzeugten gleich sind.

Wir haben also auch im Quecksilbernitrat ein Mittel sichtbare Gelatinestrukturen zu erhalten.

Die durch Behandeln von Gelatinegallerte mit Quecksilbernitratlösung erhaltenen Körper gaben infolge ihrer Zähigkeit und ihrer Unlöslichkeit in Wasser,

---

3) l. c. S. 172—73).
4) l. c. S. 156.

Benzol, Aether, Alkohol und anderen organischen und anorganischen Lösungsmitteln die Veranlassung zu untersuchen, ob sie auch zur Ultrafiltration verwendbare Filter als Ersatz der Kollodiummembran geben könnten.

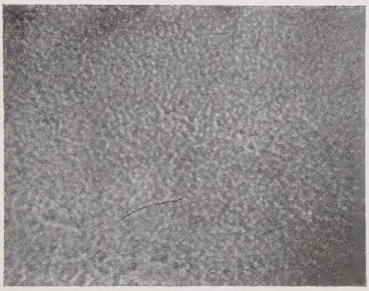
Diese Versuche haben vorläufig noch zu keinem Ergebnis geführt, sollen aber fortgesetzt werden.

Lebenslauf.

Ich, Paul Max Sternberg, wurde am 22. Januar 1884 in Mainz (Hessen) als Sohn des Oberstabsveterinär a. D. B. Sternberg, geboren. Ich besuchte das Großherzogliche Oster-Gymnasium zu Mainz, wo ich im August 1902 meine Reifeprüfung bestand. Im Oktober dieses Jahres bezog ich die Universität Straßburg, um mich dem Studium der Naturwissenschaften, insbesondere dem der Chemie, zu widmen. Im Juli 1904 bestand ich daselbst mein Verbandsexamen, besuchte dann ein Semester die Universität Berlin und ging im April 1905 an die Universität München. Im Winter 1906 begann ich meine Doktorarbeit als Hospitant der technischen Hochschule in München. Vom Herbst 1908 bis Frühjahr 1912 war ich in einer Maschinenfabrik in München tätig, vollendete dann im Sommer 1912 als Höhrer der technischen Hochschule meine Arbeit, und besuchte im Wintersemester 1912 und Sommersemester 1913 die Universität Göttingen.

Meine akademischen Lehrer waren: v. Baeyer, Braun, Bücking, Erlenmeyer, Escherisch, v. Groth, Goebel, Hofmann, Kohlschütter, Kreutz, Landolt, Lintner, Mügge, Piloty, Riecke, Röntgen, Rose, Thiele, Weyman, Ziegler, Zsigmondy.

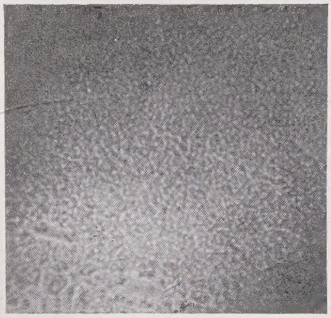
Figur 1.



10 % Gelatinelösung feucht in Quecksilbernitrat gelegt: grobe „schaumigwabige“ Struktur. Objektiv 6 A (Leitz). Okukar 3. Vergrößerung 188 fach. Konzentrischer Kondensor (Jentzsch).

Belichtungsdauer: 5 Min.

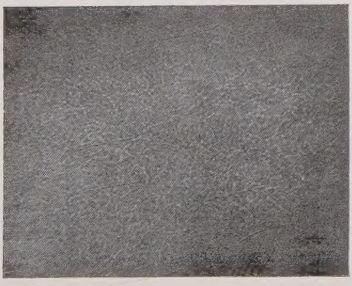
Fig. 2.



Dasselbe.

Belichtungsdauer: 10 Min.

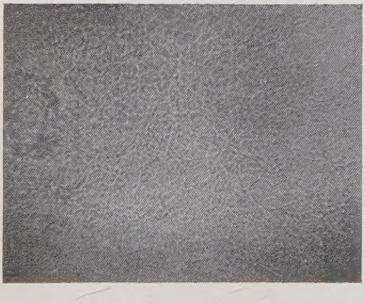
Figur 3.



10 % Gelatinelösung im Dampfraum 1 Min. erstarren lassen, dann in Quecksilbernitrat gelegt: feine, körnige Struktur. Objektiv 6 A (Leitz). Okular 3. Vergrößerung 188 fach. Konzentrischer Kondensor (Jentzsch).

Belichtungsdauer. 5 Min.

Figur 4.



Dasselbe.

Belichtungsdauer: 10 Min.

Lichtquelle: $4^1/_2$ Amp. „Ewon“-Bogenlampe.